

# CONTAMINAÇÃO POR *BACILLUS CEREUS* E OS RISCOS GERADOS ATRAVÉS DA INTOXICAÇÃO ALIMENTAR

*Contamination by Bacillus cereus and Risks of Food Intoxication*

*Contaminación por Bacillus cereus y Riesgos de Intoxicación Alimentaria*



Revista  
**Desafios**

Artigo Original  
Original Article  
Artículo Original

Ryhára Dias Batista<sup>\*1</sup>, Catiara Fernades Pereira<sup>1</sup>, Adriana Idalina Torcato de Oliveira<sup>2</sup>, Juliana Fonseca Moreira da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada (LMGA), Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brazil

*\*Autor Correspondente: Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada Universidade Federal do Tocantins - UFT, Av. NS 15, 109 Norte, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP:77.010-090. e-mail [julianaafmsilva@uft.edu.br](mailto:julianaafmsilva@uft.edu.br)*

Artigo recebido em 23/03/2018 aprovado em 29/05/2018 publicado em 30/06/2018.

## RESUMO

As intoxicações alimentares são consideradas um dos maiores problemas de saúde pública do mundo. Principalmente pelo consumo de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos e suas toxinas. O *Bacillus cereus* é uma bactéria atuante na deterioração dos alimentos e está associada à produção de enterotoxina. O presente estudo teve como objetivo demonstrar a importância do *Bacillus cereus* através do entendimento da sua epidemiologia, sintomatologia e dos fatores de virulência das toxinas emética e diarreica, bem como formas para evitar a intoxicação e os tratamentos para prevenção. Foram estudados vários casos de intoxicação em que a presença do *Bacillus cereus* foi detectada em alimentos, equipamentos e utensílios, mostrando que são fontes potenciais de transmissão do microrganismo. Evidenciou-se também a necessidade de aprimoramento das notificações de surtos alimentares visando contribuir na diminuição da chance de novas ocorrências de toxinfecções. Dessa forma a inocuidade dos alimentos é de extrema importância para a saúde da população tornando-se necessária a implantação e intensificação de medidas de controle na produção, armazenamento e higienização correta dos equipamentos.

**Palavras-chave:** *B. cereus*, enterotoxinas, doenças alimentares.

## ABSTRACT

*Food poisoning is considered one of the biggest public health problems in the world. Mainly, due to the consumption of foods contaminated with pathogenic microorganisms and their toxins. The Bacillus cereus is a bacterium that is active in the deterioration of food and it is associated with the production of enterotoxin. The present study aimed to demonstrate the importance of Bacillus cereus through the understanding of its epidemiology, symptomatology and virulence factors of emetic and diarrheal toxins, as well as ways to avoid this type of intoxication and also ways to prevent it with treatment. Several cases of intoxication were studied in which the presence of Bacillus cereus was detected in food, equipment and utensils, showing that they are potential sources of microorganism transmission. There was also evidence of the need to improve foodborne outbreaks reports in order to reduce the chance of new toxinfecções. In this way, food safety is extremely important for the population health, which makes it required for the implementation and intensification of control measures in the production, storage and correct sanitation of the equipments.*

**Key words:** *B. cereus*, enterotoxins, foodborne diseases.

## RESUMEN

*La intoxicación alimentaria se considera uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo. Principalmente, debido al consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos y sus toxinas. El*

*Bacillus cereus* es una bacteria que actúa en el deterioro de los alimentos y está asociada con la producción de enterotoxina. El presente estudio tuvo como objetivo demostrar la importancia de *Bacillus cereus* a través de la comprensión de su epidemiología, sintomatología y factores de virulencia de las toxinas eméticas y diarreicas, así como formas de evitar este tipo de intoxicación y también formas de prevenirlo con el tratamiento. Se estudiaron varios casos de intoxicación en los que se detectó la presencia de *Bacillus cereus* en alimentos, equipos y utensilios, lo que demuestra que son fuentes potenciales de transmisión de microorganismos. Es necesario mejorar los informes de brotes transmitidos por los alimentos para reducir las posibilidades de nuevas tox infecciones. Por lo tanto, la seguridad alimentaria es extremadamente importante para la salud de la población, lo que la hace necesaria para la implementación e intensificación de las medidas de control en la producción, almacenamiento y saneamiento correcto de los equipos.

**Palabras clave:** *B. cereus*, enterotoxinas, enfermedades alimenticias.

## INTRODUÇÃO

O grande número de intoxicações causadas por microrganismos patogênicos presentes em alimentos contaminados é responsável por significativos problemas de saúde pública que atingem diversos países causando morbimortalidade (Oliveira *et al.*, 2010). Atualmente cerca de 582 milhões de pessoas adoecem e, destas, 351 mil morrem por ingerirem alimentos contaminados (Franco e Landgraf, 2005; O Globo, 2016; Martinović *et al.*, 2016).

As intoxicações alimentares podem ser definidas como qualquer doença de natureza infecciosa ou tóxica, causada pelo consumo de alimentos ou bebidas contaminadas com agentes patogênicos ou suas toxinas. Dentre esses patógenos, destacam-se os fungos dos gêneros de *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. As bactérias são as que mais se destacam quanto à intoxicação alimentar como por exemplo: *Clostridium*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* e *Bacillus* (Almeida *et al.*, 2008; Martinović *et al.*, 2016).

Nas intoxicações por bactérias ocorre a ingestão de toxinas produzidas durante o crescimento das colônias nos alimentos. A maioria das toxinas bacterianas são termolábeis, isto é, são destruídas pelo processamento através do calor. No entanto, existem algumas toxinas que resistem ao processo de cozimento sem alteração de suas propriedades

tóxicas. Geralmente as toxinas bacterianas não possuem odor nem sabor e a intoxicação pode ocorrer mesmo que as bactérias produtoras não estejam mais presentes no alimento (Franco e Landgraf, 2005; Martinović *et al.*, 2016)

Praticamente todas as bactérias do gênero *Bacillus*, são consideradas como agentes patogênicos em humanos. Como exemplos, têm-se as espécies de *Bacillus cereus* e *Bacillus anthracis* que são mais conhecidos por causarem surtos de enfermidades transmissíveis por alimentos (ETA). Existem outras espécies, como *B. pumilus*, *B. thuringiensis*, e *B. brevis*, *B. subtilis* e do *B. licheniformis* que são menos reconhecidos quanto as suas características de patogenicidade, porém não há descrito na literatura de surtos no Brasil. (Batt, 2014; Franco e Landgraf, 2005).

Devido a tendências nutricionais cada vez mais frequentes do aumento de consumo de alimentos crus e frescos, produtos secos e ingredientes exóticos, a detecção de patógenos e proteção contra a deterioração dos alimentos é uma tarefa de suma importância para a população (Martinović *et al.*, 2016; Sudershan *et al.*, 2014). Desta forma, o presente trabalho, tem como objetivo caracterizar o *Bacillus cereus*, a ocorrência em alimentos e os surtos ocasionados, bem como a sua patogenicidade, fatores de virulência e ferramentas para prevenção das intoxicações alimentares.

## BACILLUS CEREUS

O *Bacillus cereus* pertence ao gênero *Bacillus* e família *Bacillaceae* que podem pertencer a quatro diferentes gêneros: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium* e *Desulfotomaculum*. (Lago, 2007). O *B. cereus* é uma bactéria ubíqua, que se apresenta em forma de bastão, Gram-positiva (G+), aeróbica facultativa, móvel e é caracterizada pela sua capacidade de formação de esporos esféricos na presença de oxigênio. Apresenta um ótimo crescimento em temperatura entre 28 e 35°C, o tempo de geração no organismo humano varia de 18 a 27 min., tolera uma ampla faixa de pH que vai de 4,9 a 9,3 e cresce em concentrações salinas de até 7,5% e em alimentos com atividade de água ( $a_w$ )  $\geq$  0,95 (Paiva *et al.*, 2009; Robison, 2014).

São transmitidos através de alimentos contaminados sendo seus esporos bacterianos entidades dormentes e altamente resistentes ao calor, a radiação ultra violeta (UV), a dessecação, a valores de pH altos ou baixos, a produtos químicos tóxicos e outras tensões ambientais desafiadoras (Mellegard, *et al.*, 2011). Devido a sua boa resistência fisiológica aliada e sua habilidade de produzir uma vasta gama de enzimas que degradam diversos substratos orgânicos isso faz com que este microrganismo seja amplamente distribuído no meio ambiente, sendo o solo seu reservatório natural (Blackburn e Mclure, 2000; Franco e Langraf, 2002). Como habitante comum do solo esta bactéria pode ser transmitida facilmente para a vegetação e posteriormente para os alimentos, podendo ser encontrado em produtos lácteos, carnes, especiarias e cereais. (Robison, 2014).

## OCORRÊNCIA EM ALIMENTOS

As doenças de origem alimentar (DTAs) são amplamente reconhecidas pelos efeitos agudos no trato gastrointestinal e em alguns casos, a gravidade pode ser tal que os doentes chegam a óbito. As DTAs são caracterizadas pelo aumento do número de evacuações, com fezes aquosas ou de pouca consistência, frequentemente acompanhadas de vômito, febre, dor abdominal e em alguns casos, presença de muco e sangue nas fezes, dando origem a surtos (Mendes, *et al.*, 2011; Nunes, *et al.*, 2016).

A maioria das intoxicações alimentares estão relacionadas ao consumo de alimentos contendo bactérias patogênicas ou toxinas. As condições higiênicas dos locais de produção e manipulação dos alimentos interferem na qualidade microbiológica dos mesmos por serem considerados pontos de contaminação, e os manipuladores são frequentemente disseminadores de agentes patogênicos. (Passos, *et al.*, 2010).

O *Bacillus cereus* é responsável por algumas intoxicações alimentares podendo provocar dois tipos de síndromes: emética e diarréica. A síndrome emética é produzida pelas células em crescimento no alimento e, se manifesta como náuseas e vômitos dentro de 1 a 5h após o consumo de alimentos contaminados. Na síndrome diarréica a intoxicação alimentar é causada pela presença de enterotoxinas complexas. Essas toxinas são produzidas durante o crescimento vegetativo de *B. cereus* no intestino delgado, onde os indivíduos contaminados apresentam como sintomas: dores abdominais, diarréia aquosa profusa, náuseas e vômitos em algum momento de 8 a 16 h após a contaminação. Em ambos os casos, os sintomas duram geralmente menos de 48 h (Granum *et al.*, 1997; Rasko *et al.*, 2005; Mellegard *et al.*, 2011).

Em estudo realizado, foi definido como caso confirmado de doença diarréica aguda (DDA) os indivíduos participantes dos XII Jogos dos Povos

Indígenas realizado no período de 08 a 16 de novembro de 2013 na cidade de Cuiabá – MT que foram atendidos no Posto Médico Avançado, referindo episódio de diarreia e/ou vômito durante a realização dos jogos. Foi verificado o aumento significativo dos casos no decorrer do evento. As amostras de alimentos analisadas apresentaram crescimento bacteriano acima dos padrões aceitáveis de *Staphylococcus aureus* nos alimentos: macarrão ao sugo, isca de carne e macarrão ao alho e óleo), *Bacillus cereus* em amostras de feijão e coliformes termotolerantes em todas as amostras referentes ao período de fabricação de 9 a 13/nov. Surtos dessa natureza indicam que não existiram condições higiênico-sanitárias adequadas no evento, colocando em risco a saúde dos participantes (Nunes *et al.*, 2016).

Mendes *et al.* (2011), avaliaram a contaminação de 24 utensílios e 6 equipamentos de cozinha, realizado em restaurante de uma universidade pública do estado de Minas Gerais. A presença de *B. cereus* foi detectada em 38,3% do total de amostras das superfícies dos utensílios e equipamentos. Além dos pontos analisados é importante considerar que pode ocorrer contaminação cruzada do patógeno, atingindo os alimentos prontos para o consumo. Portanto, para prevenir com segurança a ocorrência de doenças de origem alimentar por *B. cereus* é importante a adoção de medidas rigorosas de higiene dos equipamentos e utensílios, especialmente nos pontos onde foi identificada a presença da bactéria.

A incidência deste microrganismo representa uma grande preocupação para a indústria de laticínios, pois está associada a incidências de intoxicação alimentar, produzindo enterotoxina. Possui excelente capacidade de aderir a superfícies de aço inoxidável de lácteos e formar biofilmes o que pode levar a sérios problemas de higiene e perda

econômica devido à deterioração de produtos lácteos e comprometimento dos equipamentos. Estes biofilmes em pasteurizadores e tanques de armazenamento podem ser uma fonte de contaminação recorrente pós-pasteurização. (Kumari, 2016).

Vidal-Martins *et al.*, em 2006 realizaram uma pesquisa em 300 amostras de leite e evidenciaram um elevado percentual de cepas de *B. cereus* enterotoxigênicos em leite UHT (ultra high temperature) (75%), seguido do leite cru (50%) e pasteurizado (20,8%). Este resultado serve de alerta para a indústria e autoridades sanitárias, pois o leite UHT pode ser considerado de risco à saúde da população consumidora, indicando a necessidade de melhorias na obtenção e transporte da matéria-prima.

Sánchez, *et al.* em 2014, avaliaram a presença de *B. cereus* toxigênicos em amido de mandioca e nos suplementos alimentares para crianças em Medellín, na Colômbia. Os autores analisaram 75 amostras de suplementos e de amido e a contaminação foi de 70,7% e 44% respectivamente.

Fazzioni *et al.* (2013), analisaram 30 alimentos de panificação de cinco panificadoras de um município no meio Oeste Catarinense. Das amostras analisadas (Sonho com recheio de doce de leite ou creme de baunilha, pão doce com cobertura de creme de baunilha, e torta de requeijão) o *B. cereus* estava com o índice acima do permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que é de 10<sup>3</sup> Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g), com a contaminação em 30% das amostras de Sonho, em 20% das amostras de torta de requeijão e em 10% das amostras de pão doce. Esses alimentos apresentaram-se impróprios para consumo, pois as bactérias encontradas poderiam acarretar deterioração nos alimentos e síndromes se ingeridos pelos consumidores.

É de suma importância destacar que no estado do Tocantins não foram registrados surtos ocasionados por *Bacillus cereus* ao Ministério da saúde ou a ANVISA que são os órgãos competentes. Este fato não indica a inexistência de contaminação por este tipo de bactéria e toxinas no estado, pois existem muitos casos sub-notificados ou parcialmente notificados que não foram devidamente notificados.

## FATOR DE VIRULÊNCIA E DETECÇÃO DE ENTEROTOXINAS

De acordo com Granum (1994) o *B. cereus* produz sete diferentes tipos de toxinas. As toxinas podem ser divididas em quatro grupos: enterotoxinas, hemolisinas (cereolisina e hemolisina II), fosfolipase C (fosfatidilinositol hidrolase, fosfatidilcolina hidrolase e esfingomielinase) e a toxina emética. A maioria são produzidas durante a fase de crescimento exponencial e secretadas pelas células. Somente a toxina emética é produzida em maior quantidade durante a fase estacionária a partir de componentes nos alimentos. Vale ressaltar que a produção destes fatores de virulência está associada com as diferentes linhagens existentes de *B. cereus* (Castiaux *et al.*, 2011; Paiva *et al.*, 2009).

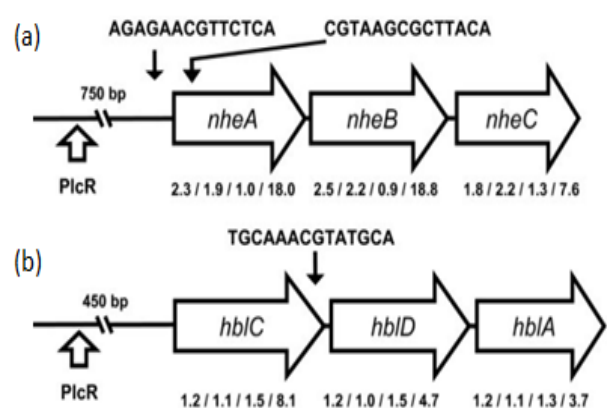
Segundo Vidal-Martins *et al* (2006), dentre as toxinas citadas acima, as que são responsáveis por surtos de DTAs são a toxina diarreica (termolábil) e a toxina emética (termoestável). A toxina diarreica consiste em quatro enterotoxinas, tal como a hemolisina BL (Hbl) que é o fator de virulência primário apresentando-se como um complexo com 3 proteínas denominadas B (37,5 kDa), L1 (38,2 kDa) e L2 (43,5 kDa), onde a primeira está relacionada nos processos de ligação do hospedeiro e as duas últimas possui uma ação lítica. Os genes que codificam essas proteínas são denominados respectivamente de *hblA*, *hblD* e *hblC* (Figura 1a). É importante ressaltar que as três proteínas juntas são necessárias para uma ação

máxima de citotoxicidade, de ação dermonecrotica e de permeabilidade vascular (Li *et al.*, 2016; Paiva *et al.*, 2009).

A segunda enterotoxina é a Nhe (enterotoxina não hemolítica) que atua como uma toxina de formação de poros e é composta por três proteínas (tripartido) denominadas de NheA (41,0 kDa), NheB (39,8 kDa) e NheC (36,5 kDa) e os genes que codificam essas proteínas são denominadas de *nheA*, *nheB* e *nheC* respectivamente (Figura 1b). A proteína NheC é obrigatória para iniciação, já a NheA é obrigatória na etapa final e dispara toxicidade por um mecanismo até agora desconhecido, e a NheB liga-se às membranas celulares, de forma independente dos outros componentes. Para uma ação máxima é necessária a presença das três proteínas juntas (Castiaux *et al.*, 2011; Heilkenbrinker *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016).

A terceira enterotoxina é chamada de enterotoxina T (41 kDa). É uma toxina não hemolítica, porém, não foi completamente esclarecida quanto o seu mecanismo de ação. A última enterotoxina é a citotoxina K (hemolisina IV) que é altamente tóxica em direção as células epiteliais intestinais humanas, possui atividades necróticas e hemolíticas, e é capaz de formar poros em bicamadas lipídicas (Heilkenbrinker *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016).

**Figura 1.** Genes que codificam as enterotoxinas (a) Nhe e (b) Hbl. Fonte: Van der Voort *et al.*, 2008.

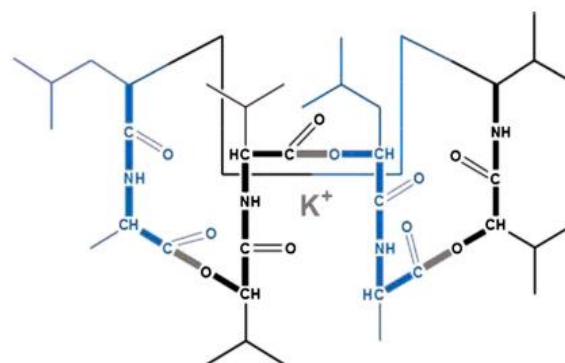


Para a detecção da toxina diarreica se utilizam os testes de alça ligada de coelho e reação de permeabilidade vascular. Além destes, há também os testes imunoenzimáticos como ELIZA (Ensaio imunossorbente ligado à Enzima) que faz uso de anticorpos monoclonais em placas para capturar o antígeno alvo e em seguida utiliza-se um segundo anticorpo conjugado a uma enzima para detecção do antígeno alvo (Paiva *et al.*, 2009; Vidal-Martins *et al.*, 2006). O segundo teste imunoenzimático realizado é a aglutinação em Látex Reversa Passiva (RPLA), onde as partículas de látex são recobertas com soro de coelho reativo contra o antígeno alvo, fazendo com que se ligue ao anticorpo específico. O resultado positivo desta técnica é a dispersão das partículas na solução, por outro lado, o resultado negativo é a precipitação das mesmas para o fundo da placa que possui um formato em V (Paiva *et al.*, 2009; Vidal-Martins *et al.*, 2006).

A toxina emética é um ciclo-dodecapsipeptídeo ionófora contendo  $\alpha$ -amino e  $\alpha$ -hidroxiácidos alternados (D - O -Leu- D -Ala- G - O -Val- L -Val) chamado de cereulideo (Figura 2). Esta toxina é extremamente estável e resistente a uma gama de pH e a clivagem enzimática ampla, bem como a inativação por meio de filtração ou o processamento térmico (126 °C por 90 min) e ácidos (Frenzel *et al.*, 2010; Paiva *et al.*, 2009).

A maquinaria necessária para a biossíntese do cereulideo é denominada de cereulideo sintetase Ces e pertence à família de peptídeos sintetases não-ribossomal (NRPS). Esta toxina é produzida a partir de um grupo de *B. cereus* que evoluiu separadamente das outras espécies, desta forma, o patógeno só pode produzir ou a toxina emética ou a toxina diarreica (Frenzel *et al.*, 2010; Marxen *et al.*, 2015; Paiva *et al.*, 2009).

**Figura 2.** Estrutura química do ciclo-dodecapsipeptídeo, [D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-L-Val]<sub>3</sub>; Preto: L-O-Val-L-Val, azul: D-O-Leu-D-Ala. Fonte: Marxen *et al.*, 2015.



A detecção da toxina emética por muitos anos não podia ser realizada, devido a problemas com a purificação, porém, com as novas tecnologias esse quadro mudou. Uma técnica que vem sendo muito utilizada é a cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massa, que identifica quatro íons específicos presentes no cereulideo ( $H^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$  e  $Na^+$ ). Outra técnica utilizada é a PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), que detecta o gene *ces* da toxina emética, bem como o gene *hbl* da toxina diarreica. Uma alternativa para a PCR convencional é uso da PCR em tempo real (qPCR) que tem como vantagens ser rápida na detecção de agentes patogênicos nos alimentos. Além disso há uma economia de tempo, é altamente específica e sensível e oferece o potencial para efeitos de quantificação (Dzieciol *et al.*, 2013; Paiva *et al.*, 2009).

## ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO *BACILLUS CEREUS*

A identificação do *B. cereus* é difícil, devido ao fato dessa bactéria ser geneticamente similar aos outros membros do grupo do *B. cereus*, como o caso do *B. thuringiensis* e *B. mycoides*. A detecção desse patógeno em alimentos consiste numa série de passos, incluindo o enriquecimento seletivo seguido por plaqueamento em meio de ágar seletivo, que



contém ingredientes para identificar o microrganismo (Batt, 2014).

Os alimentos são homogeneizados em água tamponada com fosfato de Butterfield e diluídos na proporção 1:10. As contagens diretas de placas podem ser feitas utilizando um ágar seletivo de rastreio, tal como ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP) ou ágar manitol gema de ovo (MYA) e polimixina-gema-manitol azul de bromotimol (PEMBA) autorizados pelos órgãos regulatórios internacionais (Batt, 2014; Ceuppens *et al.*, 2010). O composto polimixina é utilizado para inibir o crescimento de outros microrganismos, onde, o *B. cereus* é altamente resistente a este antibiótico. O manitol não é metabolizado pela maioria dos *B. cereus*, desta forma as colônias ficam cor-de-rosa, por outro lado, as colônias de bactérias fermentadoras de manitol ficam amarelas. A gema de ovo é utilizada como um substrato para a produção de lecitinase que é uma enzima encontrada no microrganismo em questão. O precipitado que se forma em torno da colônia pode ser facilmente distinguido após 24 h de incubação a 30 °C. Em alguns casos, são adicionadas 24 h adicionais para observar de forma clara a zona de precipitação. Nos casos em que se espera um número reduzido de *B. cereus*, este teste pode não ser adequado (Batt, 2014; Paiva *et al.*, 2009).

O limite para a quantificação das colônias é aproximadamente 10 UFC/g. A técnica do número mais provável (NMP) é indicada para bactérias em amostras abaixo de 10 UFC/g. A técnica NMP inicia-se com a diluição em caldo tripticase polimixina de soja em triplicado. Em seguida os tubos são incubados durante 48 h a 30 °C e geralmente é observado um crescimento denso. A cultura é então estriada em ágar MYP e incubada (como descrito anteriormente) (Batt, 2014; Paiva *et al.*, 2009).

Após a identificação presuntiva das colônias, de acordo com suas características de crescimento, é

necessário realizar as análises bioquímicas, tal como o método de Gram, teste da catalase e hidróxido de potássio a 3,0%, fermentação da glicose, redução do nitrato e motilidade em ágar, teste de Voges-Proskauer, hemólise em ágar sangue de carneiro, teste de tirosina e crescimento em caldo nutriente com 0,001% de lisozima (Ceuppens *et al.*, 2010). Na tabela 1 podem-se observar as diferenças quanto às características bioquímicas do *B. cereus*, *B. thuringiensis* e do *B. mycoides*.

**Tabela 1.** Testes de confirmação para o grupo *B. cerus* incluindo, *B. cereus*, *B. thuringiensis* e *B. mycoides*.

Teste de confirmação	<i>B. cereus</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. mycoides</i>
Coloração Gram	+	+	+
Catalase	+	+	+
Motilidade	±	±	-
Redução do nitrato	+	±	+
Degradação da tirosina	+	+	±
Resistência à lisozima	+	+	+
Hidrólise da gema de ovo	+	+	+
Utilização de glicose (anaeróbiose)	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+
Ácidificação do manitol	-	-	-
Hemólise	+	+	+

Fonte: BAT (2014 p.126)

## CONTROLE E PREVENÇÃO DE INTOXICAÇÕES POR *BACILLUS CEREUS*

O *Bacillus cereus* por ser um formador de esporos, vem causando grandes preocupações quanto ao consumo de alimentos ligeiramente aquecidos e subsequentes refrigerados. Os mesmos são bastante resistentes ao calor e ao serem reidratados obtém as condições para que sua germinação ocorra, provocando degradação dos alimentos bem como uma intoxicação alimentar (Luu-Thi *et al.*, 2014; Paiva *et al.*, 2009).

Os tratamentos eficazes para o controle do *B. cereus* são o cozimento em vapor sob pressão, fritura e o assar em forno a temperaturas superiores a 100 °C, que eliminará a forma vegetativa, porém partes dos esporos podem resistir a temperaturas maiores

que 100 °C. Desta forma, deve-se primeiramente fazer o controle do crescimento de células através da temperatura, atividade de água, pH e a combinação destes (Luu-Thi *et al.*, 2014; Paiva *et al.*, 2009).

Segundo López *et al* (2003), alta pressão hidrostática (APH) é muito utilizada para reduzir contaminantes microbianos em queijos e em leites crus vistos que não alteram a qualidade sensorial ou nutricional dos alimentos. A eficácia desta técnica na redução das bactérias vegetativas acontece entre 300-700 MPa, em contrapartida, os esporos bacterianos demonstram resistência a 1000 MPa, sendo necessário pressões mais elevadas, em diferentes tempos e temperaturas. Além disso, os tratamentos recomendados para a destruição direta de esporos em alimentos de baixa acidez envolvem temperaturas superiores a 90 - 105 °C e pressões superiores a 900 Mpa.

Devido ao requeijão não poder ser submetido a altas temperaturas, as pressões devem variar de 50 a 350 Mpa. A utilização destes valores de pressão a inativação dos esporos acontece em dois passos, onde primeiramente a pressão provoca a germinação dos esporos e, em seguida, inativa as formas germinadas. Outro exemplo que pode ser utilizado, é a preparação de queijo com leite cru utilizando pressões entre 60 e 150 MPa adequadas para iniciar a germinação, e 500 MPa para inativar os esporos. É importante ressaltar que pressões acima de 400 MPa são muito altas para germinação ideal (Kumari *et al.*, 2016; López *et al* 2003).

De acordo com Kumari *et al.* (2016), a fixação e o subsequente desenvolvimento de biofilmes durante o processo e o armazenamento do leite, vêm sendo uma fonte potencial de contaminação dos produtos acabados que podem encurtar a vida útil ou facilitar a transmissão de doenças. Os esporos do *B. cereus* tem a capacidade

de aderir e agir como uma fase de iniciação para a formação de biofilme no processamento de alimentos.

Com base nisso, é indicado um programa de limpeza e saneamento eficaz para eliminar os microrganismos, conhecido como Limpeza no local (CIP) que nada mais é do que um processo de limpeza da superfície no interior de tanques, pasteurizadores, dutos, equipamentos de processo e coisas associadas sem desmontá-las. Os produtos mais utilizados para essa limpeza são o ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), hidróxido de sódio (NaOH), hipoclorito de sódio (NaClO), entre outros Kumari *et al.*, 2016).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), para evitar a contaminação e a proliferação de microrganismos patogênicos, causadores de toxinfecções alimentares é fundamental tomar algumas medidas tais como:

- 1) Escolher alimentos processados de forma higiênica;
- 2) Cozinhar bem os alimentos;
- 3) Consumir imediatamente os alimentos cozidos;
- 4) Armazenar os alimentos cozidos fora da temperatura de risco;
- 5) Reaquecer suficientemente os alimentos cozidos;
- 6) Evitar o contato entre os alimentos crus e cozidos;
- 7) Lavar as mãos frequentemente;
- 8) Manter criteriosamente limpas todas as superfícies da cozinha;
- 9) Manter os alimentos fora do alcance de insetos, roedores e outros animais;
- 10) Utilizar água potável

Além dessas medidas de controle e prevenção citadas, há também substâncias protetoras que garantem a conservação dos alimentos. A longa cadeia de polifosfato e derivados ortofosfatos, são classificados como GRAS (substância considerada segura) e são muito utilizadas nas indústrias de laticínios e de carne podendo atuar como emulsificantes, estabilizantes, prevenção de oxidação,



proteção do sabor e como agentes antimicrobianos (Frenzel *et al.*, 2010; Paiva *et al.*, 2009).

Outra substância protetora é a bacteriocina AS-48, peptídeo cíclico produzido pela bactéria *Enterococcus faecalis* que possui uma atividade bactericida alta contra o *B.cereus* sob condições diferentes de temperatura e pH. Além disso, a combinação da bacteriocina com o nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ), lactato de sódio ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$ ) e cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) permitiu uma melhor inibição das células vegetativas e dos esporos do patógeno (Frenzel *et al.*, 2010; Paiva *et al.*, 2009).

## CONCLUSÃO

O estudo de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), principalmente por *Bacillus cereus* traz grandes discussões que tendem há um aumento das ações de incentivo à educação sanitária da população, a correta notificação dos episódios de surtos alimentares, bem como para realização das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e controle da qualidade nos alimentos (cereais, leites e derivados, carnes, alimentos desidratados e temperos) produzidos e acondicionados de maneira adequada, podem garantir um produto saudável e seguro para o consumidor e gerando um impacto positivo na prevenção de doenças alimentares causadas por este microrganismo.

## AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento desta pesquisa contou com benefícios do Programa Institucional de Produtividade em Pesquisa da UFT (PROPESQ/UFT).

---

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

---

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. F.; ARAÚJO, E. S.; SOARES, Y. C.; DINIZ, R. L. C.; FOOK, S. M. L.; VIERA, K. V. M. Perfil epidemiológico das intoxicações alimentares notificadas no Centro de Atendimento Toxicológico de Campina Grande, Paraíba. **Rev Bras Epidemiol**, v. 11, p. 139-46, 2008.

BATT, C. *Bacillus cereus*. In: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. **Encyclopedia of food microbiology**. London: Elsevier, v. 1, ed. 2, p. 125-128, 2014.

BLACKBURN, C.; Mc CLURE, P. Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis and control. England: Cambridge; p. 513, 2000.

CASTIAUX, V.; LIU, X.; DELBRASSINNE, L.; MAHILLON, J. Is Cytotoxin K from *Bacillus cereus* a bona fide enterotoxin?. **International Journal of Food Microbiology**, n. 211, p. 79-85, 2015.

CEUPPENS, S.; BOON, N.; RAJKOVIC, A.; HEYNDRIKX, M.; WIELE, T. V.; UYTENDAELE, M. Quantification methods for *Bacillus cereus* vegetative cells and spores in the gastrointestinal environment. **Journal of Microbiological Methods**, v. 83, p. 202-210, 2010.

DZIECIOLA, M.; FRICKER, M.; WAGNER, M.; HEIN, I.; EHLING-SCHULZ, M. A novel diagnostic real-time PCR assay for quantification and differentiation of emetic and non-emetic *Bacillus cereus*. **Food Control**, v. 32, p.176-185, 2013.

FAZZIONI, F. D. B., GELINSKI, J. M. L. N., & ROZA-GOMES, M. F. Avaliação microbiológica de produtos de confeitaria e risco à saúde do consumidor Microbiological evaluation of bakery products and risks to consumer health. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 24, n. 2, p. 164, 2013.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 182, 2005.

FRENZEL, E.; LETZEL, T.; SCHERER, S.; EHLING-SCHULZ, M. Inhibition of Cereulide Toxin Synthesis by Emetic *Bacillus cereus* via Long-Chain Polyphosphates. **Appl. Environ. Microbiol**, v. 77, n. 4, p. 1475-1482, 2011.

GRANUM, P.E.; LUND, T. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. **FEMS microbiology letters**, v. 157, n. 2, p. 223-228, 1997.

GRANUM, P.E. *Bacillus cereus* and its toxins. **J. Appl. Bact. Symp.**, v. 76 Supplement, p. 61S-66S, 1994.

HEILKENBRINKER, U.; DIETRICH, R.; DIDIER, A.; ZHU, K.; LINDBÄCK, T.; GRANUM, P. E.; MÄRTLBAUER, E. Complex formation between nheB and nheC is necessary to induce cytotoxic activity by the three component bacillus cereus nhe enterotoxin. **Plos one**, v. 8, p. 1-12, 2013.

KUMARI, S.; SARKAR, P. K. *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment. **Food Control**, v. 69, p. 20-29, 2016.

LAGO, NCMR. Bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite e estudo enterotoxigênico das cepas isoladas. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias**, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 70f., 2002.

LI, F. ZUO, S.; YU, P.; ZHOU, B.; WANG, L.; LIU, C.; WEI, H.; XU, H. Distribution and expression of the enterotoxin genes of *Bacillus cereus* in food products from Jiangxi Province, China. **Food Control**, v. 67, p. 155-162, 2016.

LOPEZ, T. J.; ROIG, A. X.; CAPELLAS, M.; TRUJILLO, A. J.; HERNÁNDEZ, M.; GUAMIS, B. A. Evaluation of the importance of germinative cycles for destruction of *Bacillus cereus* spores in miniature cheeses. **High Pressure Research**, v. 23, n. 1-2, p. 81-85, 2003.

LUU-THI, H.; KHADKA, D. B.; MICHIELS, C. W. Thermal inactivation parameters of spores from different phylogenetic groups of *Bacillus cereus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 189, p. 183-188, 2014.

MARTINOVIĆ, T.; ANDJELKOVIĆ, U.; GAJDOŠIK, M. S.; REŠETAR, D.; JOSIĆ, D. Foodborne pathogens and their toxins. **Journal of Proteomics**, v. 147, p. 226-235, 2016.

MARXEN, S.; STARK, T. D.; FRENZEL, E. Chemodiversity of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*. **Anal Bioanal Chem**, n. 407, p. 2439-2453, 2015.

MELLEGAARD, Hilde et al. A inibição da *Bacillus cereus* consequência de esporos e a multiplicação por quitosana. **Jornal Internacional de microbiologia de alimentos**, v. 149, n. 3, p. 218-225, 2011.

MENDES, R. A., COELHO, A. Í. M., & AZEREDO, R. M. C. D. Contaminação por *Bacillus cereus* em

superfícies de equipamentos e utensílios em unidade de alimentação e nutrição. **Ciênc. Saúde coletiva**, v. 16, n. 9, p. 3933-3938, 2011.

NUNES, D. M., JÚNIOR, P., MELO, J. S., DE-OLIVEIRA, E. C., MENEGUINI, V. C., DIAS, F., ... & DIMECH, G. S. Outbreak of foodborne disease at a mass event of indigenous peoples in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil, in 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 1, p. 195-202, 2016.

O GLOBO. Intoxicação alimentar mata mais de 350 milhões de pessoas por ano, alerta OMS. Disponível em:

<<http://oglobo.globo.com/sociedade/saude/intoxicacao-alimentar-mata-mais-de-350-mil-pessoas-por-ano-alerta-oms-15768347>> Acesso em 3 de dezembro de 2016.

OLIVEIRA, ABA et al. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Rev HCPA**, v.30, n.3, p.279-285, 2010

PAIVA, E. P.; FAI, A. E. C.; SOARES, D. S.; STAMFORD, T. L. M. *Bacillus cereus* e suas toxinas em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 170/171, p. 87-92, 2009.

PASSOS, E. D. C., MELLO, A. R. P. D., SOUSA, C. V. D., SILVA, C. R. D., ALONSO, A. C. B., GONZALEZ, E., & TAVARES, M. Provável surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa no litoral da região sudeste do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 69, n. 1, p. 136-140, 2010.

RASKO D.R, ALTHERR M.R, HAN C.S, RAVEL J. Genomics do grupo *Bacillus cereus* de organismos. **FEMS Microbiology comentários**, v. 29, n. 2, p. 303-329, 2005.

SÁNCHEZ, J. A., CORREA, M. M., ACEVES-DIEZ, A. E., & CASTAÑEDA-SANDOVAL, L. M. Direct detection of toxigenic *Bacillus cereus* in dietary complement for children and cassava starch. **Revista Colombiana de Química**, v. 43, n. 2, p. 5-9, 2014.

SUDERSHAN R. V.; KUMAR, R. N.; KASHINATH, L.; BHASKAR, V.; POLASA, K. Foodborne Infections and Intoxications in Hyderabad India. **Epidemiology Research International**, p. 1-5, 2014.

VAN DER VOORT, M.; KUIPERS O.P.; BUIST G.; DE VOS, W.M.; ABEE, T. Assessment of CcpA-mediated catabolite control of gene expression in

Bacillus cereus ATCC 14579. **BMC Microbiol**, v.8, n. 62, 2008.

VIDAL-MARTINS, A. M. C.; ROSSI, O. D. J.; BÜRGER, K. P.; CARDOZO, M. V.; SALLOTI, B.

M.; CORTEZ, A. L. L. Bacillus cereus enterotoxigênicos em diferentes fases do processamento de leite UAT. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária.**, v. 13, n. 1, p. 32-36, 2006.